

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ КЛЕТОК ХОЗЯИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОПИСТОРХОЗЕ

Кужель Д.К., Бекиш В.Я., Зорина В.В.

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Актуальность. Известно, что инвазия метацеркариями *Opisthorchis felineus* вызывает в клетках костного мозга золотистых хомяков повышение количества клеток с вторичными нарушениями в структуре и числе хромосом. Наиболее значимые цитогенетические изменения отмечались на 60-й и 120-й дни инвазии и характеризовались увеличением хромосомных разрывов, транслокаций, а также уровней гипоплоидных, гиперплоидных и полиплоидных клеток. Добавление водно-солевого экстракта описторхисов в культуры лимфоцитов крови доноров приводило к нарушениям в наследственном аппарате в виде увеличения числа аберрантных и гипоплоидных клеток (Ильинских Н.Н., 1981). В 2006 г. была выявлена прямо пропорциональная зависимость у больных хроническим описторхозом между числом лимфоцитов периферической крови с цитогенетическими нарушениями и титрами антител к антигенам вируса Эпштейн-Барра (Ильинских Е.Н. и соавт., 2006). Наиболее значимые изменения отмечались у больных с отягощёнными формами хронического описторхоза. Изучение изменений уровней первичных повреждений ДНК соматических клеток хозяина при паразитировании кошачьих сосальщиков, а также апоптотических клеток ранее не проводились.

Цель исследования – изучить возможные гено- и цитотоксических эффекты в соматических клетках хозяина при экспериментальном описторхозе.

Материал и методы. Исследования проводили на 40 золотистых хомяках, которых разделяли на две группы (контрольная и опытная) с одинаковым количеством животных в каждой. Контрольной группе вводили внутрижелудочно стерильный 0,9 % раствор хлорида натрия в объеме 0,5 мл. Опытную группу разделили на четыре подгруппы в зависимости от срока забоя. Всем подгруппам животных вводили внутрижелудочно жизнеспособных метацеркариев *O. felineus* из расчета 2 на 1 г массы тела животного по разработанному нами методу. Исследования проводили на 7-й, 14-й, 21-й и 28-й дни от заражения. На все сроки наблюдения хомяков умерщвляли путем декапитации под эфирным наркозом. Выделяли печень, бедренные кости. Забор периферической крови из сонной артерии производили при помощи вакутайнеров фирмы Monovette с Li-Heparin LH. Клеточные суспензии костного мозга, печени получали по разработанному методу.

Щелочной гель-электрофорез изолированных клеток (метод «ДНК-комет») проводили по N.P. Singh et al. в нашей модификации. Повреждения молекулы ДНК определяли при помощи автоматической программы “CASP

v. 1.2.2". В микропрепаратах ДНК-комет всех трех типов клеток подсчитывали по 50 клеток, где учитывался основной показатель генотоксичности: «момент хвоста», вычисленный программой из «длины хвоста», умноженного на процент ДНК в «хвосте кометы». Для оценки цитотоксического воздействия в 100 случайно выбранных клетках определяли процент апоптотических. Результаты обрабатывались статистически с использованием программы Excel 2007.

Результаты и обсуждение. Установлено, что мариты кошачьего сосальщика обладают генотоксическим воздействием на соматические клетки организма хозяина на 7-й, 14-й, 21-й и 28-й дни инвазии, которое характеризуется увеличением количества одноцепочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК в клетках крови, костного мозга и печени *in vivo*. Рост уровня первичных повреждений ДНК в клетках хозяина был обусловлен повышением числа мелких разрывов ДНК (рост «длины хвостов комет»), процента поврежденной ДНК и основного показателя генотоксичности – «момента хвоста». «Длина хвостов комет» при инвазии достоверно повышалась в среднем в 1,2-2,5 раза в клетках крови на 7-й, 21-й и 28-й дни инвазии, а процент ДНК в «хвостах комет» в 1,8-3,1 раза на 7-й, 14-й, 21-й дни наблюдения. Основным показателем генотоксичности возрастал в 2,7-8,2 раза, а цитотоксичности – в 2,6-8,3 раза. В клетках костного мозга «длина хвостов комет» и процент ДНК в «хвостах комет» возрастали в 1,8-2,9 и 1,9-6,3 раза соответственно, основным показателем генотоксичности («момент хвоста») – в 1,9-6,5 раз, а процент апоптотических клеток в 5,3-10,5 раз. В клетках печени «длина хвостов комет» и процент ДНК в «хвостах комет» увеличивались в 1,6-2,7 и 1,8-3,6 раза по отношению к контролю. Основным показателем генотоксичности превышал контрольные уровни на всех сроках наблюдения в 3,5-7,1 раза, а цитотоксичности – в 2,3-6,2 раза. Наиболее выраженные генотоксические эффекты во всех исследуемых типах клеток наблюдались на 7-й и 14-й дни наблюдения, а цитотоксический эффект – на 21-й и 28-й дни инвазии. Суммарно генотоксический и цитотоксический эффекты инвазии кошачьими сосальщиками раньше проявлялись в клетках крови и костного мозга и позднее наблюдались в клетках печени золотистых хомяков.

Полученные нами данные характеризующие рост первичных повреждений ДНК и апоптоза соматических клеток хозяина согласуются с результатами проведенных ранее исследований при других трематодозах. О.О. Motorna et al. (2001) была изучена способность метаболитов *Fasciola hepatica* вызывать генные мутации в соматических клетках инвазированных млекопитающих. Исследования были проведены на трансгенных мышам-самцах линии C57BL/6 Big Blue®, которых заражали в дозе 2 метацеркария печеночного сосальщика на особь. К 15-му дню после заражения был установлен рост генных *lacI* мутаций в гепатоцитах зараженных животных по сравнению с контрольными. У инвазированных мышей в спектре мутаций значительно повышалось число *lacI* спонтанных и многократных мутаций (18,2 %) по сравнению с незараженными животными (2,8 %). S.K. Lundy et al.

(2001) изучили апоптоз CD4⁺ Т лимфоцитов в течение шистосомозной инвазии у мышей-самок линии СВА/J^k. Животных заражали в дозе 25 церкариев *Schistosoma mansoni* и исследовали ранний апоптоз Т-лимфоцитов селезенки и клеток шистосомозных гранул. Авторы показали, что в течение созревания личинок (4 недели после заражения) апоптоз в селезеночных CD4⁺ Т-лимфоцитах не повышался, но многократно возрастал к 6-ой неделе инвазии и коррелировал с временем попадания яиц в печень.

Выводы. 1. Метаболиты марит кошачьего сосальщика обладают генотоксическим воздействием на соматические клетки золотистых хомяков. Генотоксическое воздействие в клетках крови животных наблюдается на 7-й, 14-й, 21-й и 28-й дни инвазии с максимальной выраженностью в 8,2 раза на 14-й день инвазии. В клетках костного мозга показатель «момента хвоста комет» в 1,9-6,5 раза превышал контрольные величины с максимальной выраженностью на 21-й день инвазии. В печени максимальный генотоксический эффект в 7,1 раза наблюдался на 14-й день инвазии.

2. В клетках крови, костного мозга и печени животных при экспериментальном описторхозе повышается уровень апоптотических клеток, обусловленный цитотоксическим эффектом инвазии. Цитотоксическое воздействие метаболитов марит кошачьего сосальщика наблюдается на 7-й, 14-й, 21-й и 28-й дни инвазии в крови с максимальной выраженностью этих изменений на 21-й день в 8,3 раза. В костном мозге максимальная степень апоптоза клеток в 10,5 раз наблюдалась на 14-й и 28-й дни инвазии. Апоптоз клеток печени у зараженных животных превышал в 2,3-6,2 раза уровни контроля с максимальной выраженностью этих изменений на 28-й день наблюдения.

АНАТОМИЯ ВНЕОРГАННЫХ АНАСТОМОЗОВ НИЖНЕЙ МОЧЕПУЗЫРНОЙ АРТЕРИИ

Кузьменко А.В.

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Актуальность. При проведении оперативных вмешательств на висцеральных артериях таза одним из приоритетов является сохранение коллатерального русла для дальнейшей успешной реабилитации пациента. В последние годы большое внимание уделяется селективной эндоваскулярной установке тромбообразующих конструкций, что позволяет изолировать лишь отдельную часть русла артериального сосуда [1, 2]. При таком методе лечения и учете расположения внеорганных анастомозов нижней мочепузырной артерии можно значительно снизить их блокирование тромбами в послеоперационном периоде.

Цель. Установить топографию внеорганных анастомозов нижней мочепузырной артерии.